

Устройство для поиска оптимальных параметров обработки биологических объектов переменным магнитным полем

Г. П. ИЛЬЧЕНКО¹, М. Г. БАРЫШЕВ¹, Е. Е. ТЕКУЦКАЯ¹, В. С. ШЕЛИСТОВ²,
А. В. НИКИТИН¹

¹ Кубанский государственный университет, Краснодар, Россия

² Финансовый университет при Правительстве Российской Федерации, Краснодарский филиал, Краснодар, Россия, e-mail: g1ilchenko@mail.ru

Разработано устройство для поиска оптимальных параметров обработки биологических объектов переменным магнитным полем. Поиск параметров производится путём автоматического исследования зависимостей физических характеристик биологических жидкостей, полученных из биообъектов, от частоты и напряжённости поля.

Ключевые слова: биологические объекты, биологические жидкости, переменное магнитное поле, инфракрасная спектроскопия, микроконтроллер.

A device was developed for searching of optimal parameters for processing of biological objects by an alternating magnetic field through the automated analysis of the dependencies of the physical characteristics of biological liquids obtained from those biological objects upon the frequency and strength of the field.

Key words: biological objects, biological liquids, alternating magnetic field, infrared spectrometry, microcontroller.

Магнитное поле (МП), действуя на биологические объекты, вызывает ускорение некоторых биохимических реакций и, следовательно, способствует изменению ряда биохимических, биофизических и физико-химических показателей объектов [1—4]. Например, переменное МП с определёнными значениями частоты и напряжённости способствует увеличению всхожести семян растений и повышению урожайности [5]. Для достижения наибольшего биологического эффекта необходимо определять оптимальные параметры МП, учитывая особенности конкретного объекта, находящегося в определённых условиях. Поиск оптимальных параметров обычно осуществляется методом многократного повторения воздействия МП с различными значениями частоты и напряжённости на объект и измерения биологического эффекта. Существенными недостатками такого метода являются значительные затраты времени (от нескольких дней до месяца) и трудоёмкость.

В [5] описан способ магнитной обработки, при котором из пробы объекта получают биологическую жидкость для достижения наилучшего результата. Полученную жидкость — водный экстракт — подвергают действию переменного МП, по характеру изменения импеданса жидкости определяют оптимальные параметры МП для последующего воздействия на объект.

В основе данного способа лежит тот факт, что зависимости некоторых физических характеристик биологических жидкостей от частоты и напряжённости воздействующего МП имеют максимум, соответствующий максимальному воздействию МП на растворённые в жидкости макромолекулы (дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК), белки, органические кислоты, полифенолы и др.) [1, 3].

Одной из физических характеристик биологических жидкостей может быть коэффициент поглощения воды в среднем инфракрасном (ИК) диапазоне (400—4000 см⁻¹). В ра-

боте [4] установлено, что при обработке водных растворов ДНК, выделенных из клеточных культур *Saccharomyces cerevisiae*, низкочастотным МП в их ИК-спектрах наблюдалось появление новых полос поглощения в диапазоне 1000—1100 см⁻¹.

Методы поиска оптимальных параметров МП, основанные на исследовании физических характеристик биологических жидкостей, позволяют сократить время исследования до нескольких часов, однако остаются достаточно трудоёмкими, так как большинство операций производится вручную и требует постоянного присутствия исследователя.

Поиски путей сокращения времени на такие исследования привели к разработке нового устройства, позволяющего автоматически выполнять измерения физических характеристик биологических жидкостей и обработку результатов для нахождения оптимальных параметров МП [6].

Описание устройства. Устройство для поиска оптимальных параметров МП состоит из трёх частей (рис. 1): персонального компьютера (ПК); генераторного блока ГБ, в который входят микроконтроллер МК, усилитель мощности УМ и модуль управления и индикации МУИ для работы в автономном (без ПК) режиме; заземлённой экранированной камеры ЭК для магнитной обработки, в которой находятся излучатель И, измерительный модуль ИМ, датчики напряжённости ДН МП и температуры ДТ. При воздействии МП на биологические жидкости необходим контроль температуры, поскольку конформационное состояние растворённых в воде биомолекул изменяется в зависимости от температуры, что приводит к смещению ИК-спектра [2].

На ПК установлена написанная на языке Delphi программа поиска оптимальных параметров МП на основе измерений физических характеристик биологических жидкостей. Измерения выполняются измерительным модулем, в качестве которого использован ИК-спектрометр Bruker модель

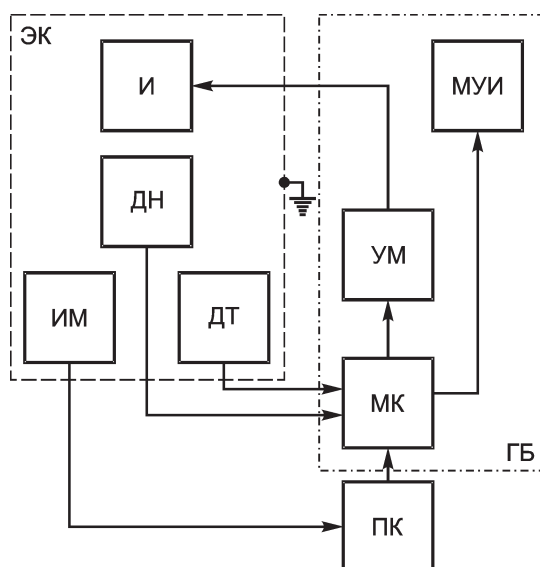


Рис. 1. Структурная схема устройства для автоматизированного поиска оптимальных параметров обработки биологических жидкостей переменным МП:

ИМ — измерительный модуль; ДН, ДТ — датчики температуры, соответственно; ЭК — заземлённая экранированная камера; И — излучатель; МУИ — модуль управления и индикации; УМ — усилитель мощности; МК — микроконтроллер; ГБ — генераторный блок; ПК — персональный компьютер

Tensor 27. Микроконтроллер подключен к ПК и выполняет две функции: генерирование низкочастотного сигнала, который усиливается усилителем мощности и подаётся на излучатель, создающий МП; создание программно-аппаратного интерфейса между ПК и аналоговыми датчиками.

Анализ работы устройства. Устройство работает следующим образом. Предварительно получают биологическую жидкость, которая может представлять водный экстракт из пробы объекта. В измерительный модуль помещают кювету с жидкостью и запускают на ПК программу поиска оптимальных параметров МП. Температура биологической жидкости измеряется с помощью датчика температуры, спектр поглощения в диапазоне $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$ при отсутствии МП регистрируется ИК-спектрометром.

Автоматически устанавливаются начальные значения частоты и напряжённости МП, подаётся напряжение на излучатель, создающий МП, воздействующее на исследуемую жидкость. При заданных параметрах поля производится обработка в течение определённого интервала времени, затем снимается ИК-спектр. Частота МП изменяется с установленным шагом в заданном диапазоне. После каждого изменения частоты МП и последующей обработки жидкости регистрируется её ИК-спектр поглощения. Через 30 с регистрируется следующий спектр. Таким образом формируется семейство ИК-спектров на различных частотах МП. Далее с заданным шагом устанавливается новое значение напряжённости МП и снимается новое семейство ИК-спектров поглощения жидкости при изменении частоты МП в заданном диапазоне.

После этого с помощью программы поиска оптимальных параметров МП анализируются зарегистрированные семейства спектров, определяется длина волны ИК-излучения, при

которой наблюдается наибольшее изменение коэффициента поглощения исследуемой жидкости при воздействии на неё МП. Затем строятся зависимости коэффициента поглощения на этой длине волны ИК-излучения от частоты МП различной напряжённости, устанавливаются частота и напряжённость МП, соответствующие максимумам указанных зависимостей.

В завершение осуществляется воздействие на изучаемый биообъект МП с найденными параметрами. Для этого биообъект помещают в экранированную камеру рядом с излучателем (см. рис. 1).

При работе в автономном режиме устройство позволяет задавать МП с определёнными параметрами, а также контролировать температуру и напряжённость поля в зоне размещения биообъекта. Диапазон времени обработки составляет 1—99 мин.

По результатам анализа элементной базы и доступности программного обеспечения для устройства был выбран микроконтроллер серии AT90PWM фирмы Atmel. Измерительные датчики выбирали отдельно от средств обработки и передачи данных [7]. В качестве датчика температуры использовали медный термометр сопротивления, а датчиком напряжённости МП служил датчик Холла. Для генерирования низкочастотного сигнала применяли цифроаналоговый преобразователь (ЦАП), встроенный в микроконтроллер.

Разработанное устройство даёт возможность генерировать сигналы синусоидальной формы в диапазоне $0,001\text{--}1000\text{ Гц}$ с шагом 1 МГц . В качестве разумного компромисса была выбрана 255-ступенчатая аппроксимация синусоиды, которая позволяет достигнуть погрешности задания амплитуды на уровне $0,4\%$ действующего значения напряжения. Нижнее значение диапазона частоты дискретизации ограничено требуемой точностью установки частоты генерируемого сигнала (для достижения шага в 1 МГц — не менее 10 кГц), а верхнее — производительностью алгоритма (не более $1/64$ тактовой частоты); в результате выбрано значение $62,5\text{ кГц}$. Чтобы за период дискретизации вычислить амплитуду в архитектуре AVR с 8-разрядной целочисленной арифметикой, микропрограмма использует табличную аппроксимацию значений синуса. Оптимизированный код табличного вычисления значений синуса, написанный на языке ассемблера, позволяет процессору одновременно обрабатывать данные аналого-цифрового преобразователя (АЦП), организовывать интерфейс с компьютером и выводить на жидкокристаллический дисплей данные о параметрах устройства.

Алгоритм вычисления значения синусоидального сигнала в заданный момент времени основан на вычислении фазы этого сигнала с точностью, обратно пропорциональной длине таблицы. Поскольку частота сигнала задаётся рациональным числом, то приращение фазы сигнала между дискретными моментами времени также является рациональным числом. Таким образом, значение нормированной фазы сигнала может быть вычислено с использованием целочисленной арифметики точно, без каких-либо ошибок округления. Если каждое значение нормированной фазы соответствует целочисленному индексу в таблице значений синуса, то погрешность вычисления амплитуды сигнала будет определяться исключительно точностью ЦАП. В разработанном алгоритме вычисленный индекс оказывается дробным, поэтому окончательная погрешность определяется также шагом таблицы и применяемым алгоритмом интерполяции.

Принимая во внимание точность задания частоты сигнала и частоту дискретизации ЦАП, авторы остановились на таблице из 2563 элементов (это число выбрано из соображений оптимизации целочисленного деления) и простом отбрасывании дробной части индекса, что в худшем случае даёт погрешность определения амплитуды около 0,02 %. Использование 8-битного ЦАП делает указанную погрешность незначительной.

Аналоговый сигнал с выхода ЦАП через фильтр нижних частот подается на вход усилителя мощности, к которому подключён излучатель, выполненный в виде соленоида длиной 19 см, диаметром 4,7 см и толщиной обмотки 9,8 мм, тип провода ПЭВ-1. Для расчёта соленоида использовали программу Coil32. Были получены результаты: диаметр провода 0,75 мм (с изоляцией 0,81 мм); число витков катушки 2735; число слоёв 12; длина провода 485,31 м; сопротивление катушки 20 Ом, индуктивность катушки 84 мГн.

Импеданс соленоида, а значит и протекающий через него ток зависят от частоты. Для обеспечения постоянства в широком диапазоне частот магнитной индукции, создаваемого соленоидом, необходимо стабилизировать ток. Обычно для этого используют усилитель мощности, построенный по принципу источника тока, управляемого напряжением (ИТУН) за счёт использования комбинированной (отрицательной по напряжению и положительной по току) обратной связи [7].

Для дополнительного подавления пульсаций тока с частотой дискретизации желательнее ограничить верхнюю частоту f_b полосы пропускания усилителя мощности верхней частотой генератора, равной 1 кГц. Это возможно, если выходное сопротивление $R_{\text{вых}}$ усилителя будет больше импеданса соленоида на этой частоте: $R_{\text{вых}} > 2\pi f_b L$. При этом индуктивность соленоида и выходное сопротивление усилителя мощности образуют фильтр нижних частот первого порядка с частотой среза $f_{\text{ср}} > f_b$. Для получения необходимого выходного сопротивления усилителя в схеме ИТУН [7] необходимо изменить соотношение сопротивлений резисторов R_2, R_4 : $R_2 < R_4$ вместо $R_2 = R_4$. Схема, удовлетворяющая этим требованиям, выполненная на интегральном усилителе мощности TDA2030, изображена на рис. 2. Также схема дополнена элементами, необходимыми для задания режима по постоянному току (R_1, C_1, C_2) и обеспечения устойчивой работы (R_5, C_3 — C_7, D_1, D_2).

Управление устройством осуществляется двумя способами: через приёмопередающий интерфейс с применением ПК или в автономном режиме с помощью клавиатуры на лицевой панели генераторного блока. Чтобы избежать непрерывного опроса состояния кнопок, использовали подсистему внешних прерываний. При замыкании любой кнопки или получении команды от ПК управление передавалось подпрограмме — обработчику прерывания.

С целью сокращения количества задействованных выводов микроконтроллера кнопочную клавиатуру подключали по одному проводу. К встроенному АЦП подключали источник опорных напряжений, выдающий напряжения разного уровня при нажатии различных кнопок (рис. 3). Измеряются напряжения, полученные данные сравниваются с таблицей значений, соответствующих нажатым кнопкам. Для устранения дребзга контактов проводится несколько таких измерений с паузами 15 мс и последующим усреднением.

Для немедленной реакции на нажатие клавиши применялся аналоговый компаратор. Вход компаратора в выбран-

ном микроконтроллере расположен на одном физическом выводе вместе с входом АЦП. Компаратор отслеживал переход уровня напряжения через пороговое значение и генерировал прерывание по этому событию. Для исключения случайного нажатия кнопок на приборе во время проведения эксперимента предусмотрена блокировка клавиатуры.

Названия вводимой величины, её единицы измерения и численные значения воспроизводились на алфавитно-цифровом жидкокристаллическом дисплее. Во время работы на экране попеременно отображались генерируемая частота, амплитуда и время до окончания эксперимента.

Интерфейс устройства условно делится на две части — программную и аппаратную. Панель управления, расположенная на генераторном блоке, позволяет задавать основные параметры работы, а для программного управления устройством, как и для приёма данных, используется последовательный канал RS-232. Обмен данными осуществляется в полнодуплексном режиме. Для обеспечения совместимости с компьютерами, в которых отсутствуют адаптеры UART/RS-232, применяли преобразователь интерфейсов USB ↔ RS-232, основанный на специализированной микросхеме PL-2303. При наличии COM-порта в ПК разработанное устройство подключается напрямую к нему, а при его отсутствии — ко входу преобразователя, который, в свою очередь, соединяется с шиной USB компьютера.

С целью наблюдения за ходом эксперимента и отображения результатов измерений в реальном времени накопление и визуализация принятых данных велась на ПК. Для упрощения программного кода микроконтроллера глубина дискретизации ограничивалась 8 битами, поэтому от модуля UART/RS-232 требовалась скорость передачи данных с учётом накладных расходов протокола не более 115,2 кбит/с.

Стандартный интерфейсный кабель для COM-порта не имел достаточную помехозащищённость, поэтому был модифицирован. Для модернизации кабеля использовали медную витую пару категории не ниже 3 и подключение к кабелю пассивного RC-фильтра. Для уменьшения паразитной ёмкости были включены шунтирующие резисторы между линиями передачи данных и сигнальной «землей» в приёмопередающем модуле устройства. Такой простой приём полностью исключил реактивные помехи и позволил втрое увеличить длину кабеля, сохранив стабильную связь между узлами на выбранной скорости.

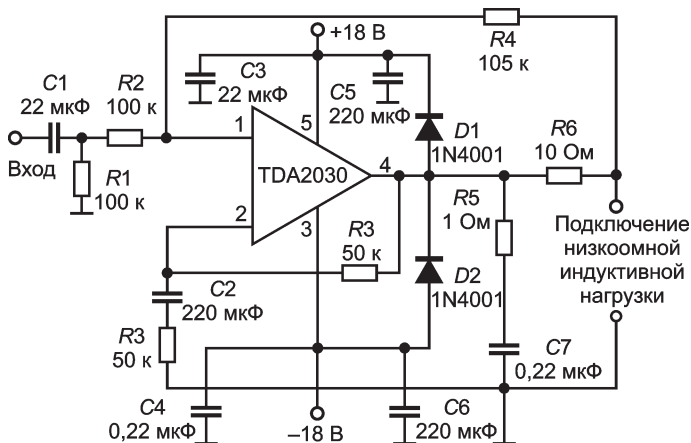


Рис. 2. Схема усилителя мощности с комбинированной обратной связью

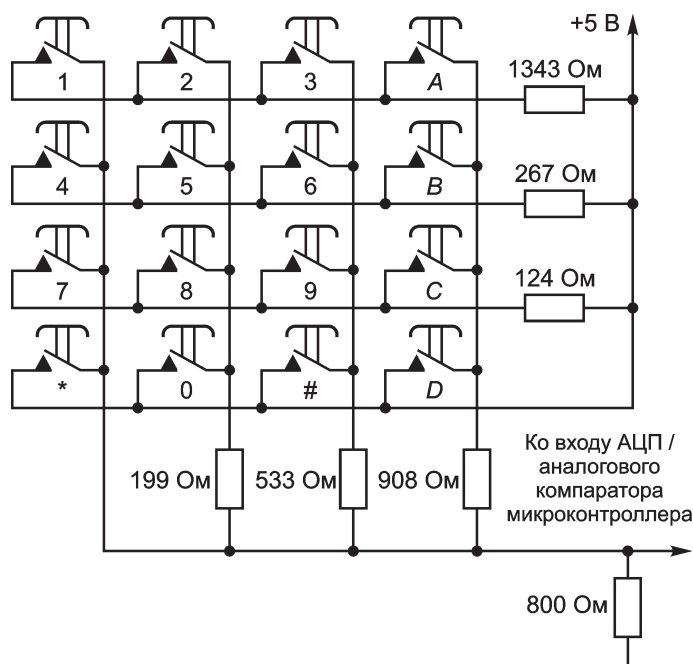


Рис. 3. Схема подключения кнопочной клавиатуры по одному проводу

Для создания, отладки, компиляции программы и записи кода в память микроконтроллера, а также для программирования fuse-битов применяли следующие программы: CodeVision AVR C Compiler, Visual Micro Lab, PonyProg 2000, Uniprof, а также транслятор ассемблера, поставляемый корпорацией Atmel. Проверка устойчивости работы микроконтроллера проводилась в диалоговом режиме программными средствами HyperTerminal и COMPort.

При подключении генераторного блока к ПК микроконтроллер служил ведомым устройством и ожидал команд на выполнение совокупности действий. Приём, передачу и обработку данных от микроконтроллера и измерительного модуля выполняет программа поиска оптимальных параметров МП. Приём данных происходит в цикле. Принятые данные размещаются в окнах графиков в режиме реального времени, а после окончания измерений могут быть обработаны дополнительно. При необходимости принимаемая информация может быть сохранена в текстовом виде или импортирована, например, в Microsoft Office Excel.

Применение нового устройства. В качестве биообъекта были выбраны клетки пекарских дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*). Биологическая жидкость представляла водный раствор ДНК, предварительно выделенной из данных клеток. Концентрация ДНК составляла 30 мкг/мл. Температуру раствора, равную 4 °С, контролировали с точностью 0,2 °С. Частота МП изменялась с шагом в 0,2 Гц в диапазоне 1—50 Гц, а напряжённость МП — с шагом 5 А/м в диапазоне 5—50 А/м. Обработка биологической жидкости МП производилась в течение 5 мин при каждом значении частоты и напряжённости. Наибольшее изменение коэффициента поглощения исследуемой биологической жидкости наблюдалось на длине волны ИК-излучения 9,19 мкм (волновое число 1088 см⁻¹). Зависимость коэффициента поглощения от частоты и напряжённости имела выраженный максимум на

частоте 8,0 Гц и при напряжённости 10 А/м. Значения частоты и напряжённости МП, соответствующие этому максимуму, являются оптимальными для стимулирования роста дрожжей.

Затем в течение 3 мин на биообъект действовало МП с найденными параметрами, что привело к увеличению концентрации клеток на 3·10⁵/мл по сравнению с контрольным значением.

Далее оценивали изменение времени исследования биологических жидкостей в переменном МП с помощью предлагаемого устройства по сравнению с устройством, описанным в [5]. Для этого описанный выше эксперимент выполняли с применением данного устройства. При этом оставались неизменными основные параметры эксперимента — концентрация ДНК, температура раствора, диапазон и шаг изменения частоты и напряжённости МП, время обработки биологической жидкости и биообъекта.

В ходе вышеописанного эксперимента было установлено, что использование нового устройства позволяет сократить общее время исследования по сравнению с устройством, описанным в [5] с 7,6 до 5,9 ч. При этом время занятости оператора сокращается с 7,6 ч до 10 мин.

Заключение. С помощью разработанного устройства можно выполнять большой объём исследований физических характеристик биологических объектов в переменном МП, воздействующем на жидкость, и подбирать оптимальные значения напряжённости и частоты МП для последующего воздействия на биообъекты.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант р_а № 16-42-230187 «Денатурационные и конформационные переходы природных биополимеров при действии переменного магнитного поля»).

Л и т е р а т у р а

1. Бинги В. Н. Принципы электромагнитной биофизики. М.: ФИЗМАТЛИТ, 2011.
2. Бучаченко А. Л., Кузнецов Д. А., Бердинский В. Л. Новые механизмы биологических эффектов электромагнитных полей // Биофизика. 2006. Т. 58. № 6. С. 933—941.
3. Теуцкая Е. Е., Барышев М. Г., Ильченко Г. П. Влияние низкочастотного электромагнитного поля на хемилюминесценцию водных растворов ДНК // Биофизика. 2015. Т. 60. № 6. С. 1099—1103.
4. Теуцкая Е. Е., Барышев М. Г., Вишневский В. В. Воздействие электромагнитного излучения низкой частоты на ДНК тестовых клеточных структур // Космические факторы в эволюции биосферы и геосферы. Сборник статей. 2014. С. 235—241.
5. Пат. 2342658 РФ. Способ определения оптимальных параметров магнитного поля для регулирования всхожести семян / Барышев М. Г. // Изобретения. Полезные модели. 2008. № 36.
6. Пат. 156339 РФ. Устройство для автоматизированного исследования биологических жидкостей в переменном магнитном поле / Барышев М. Г., Ильченко Г. П., Теуцкая Е. Е., Ломакина Л. В. // Изобретения. Полезные модели. 2015. № 31.
7. Волович Г. И. Схемотехника аналоговых и аналого-цифровых электронных устройств. М.: Додэка XXI, 2011.

Дата принятия: 12.10.2016.